
Ю.Г. Чернецкая¹, Ю.Г. Белковская¹,
Т.В. Трухачева¹, А.И. Жебентяев²,
П.Т. Петров³

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МИРАМИСТИНА В ГИДРОГЕЛЕВЫХ ПОЛИМЕРНЫХ МАТРИЦАХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

¹РУП «Белмедпрепараты», г. Минск

²Витебский государственный
медицинский университет

³ГУ Научно-производственный центр
«Институт фармакологии и биохимии
Национальной академии наук Беларуси»,
г. Минск

Разработана методика идентификации и количественного определения мирамистина (миристамидопронилдиметилбензиламмония хлорида) в новой лекарственной форме на основе гидрогелевых полимерных матриц с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии со спектрофотометрическим детектором. Установлены оптимальные условия хроматографического анализа: колонка размером 250x4,6 мм, заполненная октилсилильным силикагелем (Lichrospher 100 RP-8), в качестве подвижной фазы использова-

ли 0,5 М раствор аммония ацетата в смеси метанол - вода (93:7), скорость элюирования – 1,0 мл/мин. Детектирование проводили при длине волны 261 нм. Объем вводимой пробы – 100 мкл. Оптимизированы условия пробоподготовки образцов для анализа. В результате проведенной валидации подтверждены избирательность, линейность, повторяемость, воспроизводимость и правильность разработанной методики.

Ключевые слова: *высокоэффективная жидкостная хроматография, гидрогелевые полимерные матрицы, мирамистин.*

ВВЕДЕНИЕ

Мирамистин находит применение в производстве антисептических средств, обладающих широким спектром противомикробного действия. Освоены и выпускаются различные виды лекарственных форм на основе мирамистина: мази, растворы, клеи [1].

Для лечения инфицированных ран и ожогов разработан новый вид аппликационных лекарственных средств с антисептиком мирамистином (миристамидопропилдиметилбензиламмония хлоридом) [2]. Новая лекарственная форма для наружного применения «Гидрогелевые пластины» включена в Государственную фармакопею Республики Беларусь (ГФ РБ) [3]. Трехмерная полимерная структура гидрогелевых пластин формируется в результате воздействия ионизирующего излучения на растворенные в воде полимеры медицинского назначения. Нами установлено, что благодаря введению в состав мирамистина, антисептика широкого спектра действия из группы четвертичных аммониевых соединений, гидрогелевые матрицы обладают выраженным противомикробным действием по отношению к наиболее часто встречающимся условно-патогенным микроорганизмам, основным возбудителям раневой инфекции: грамположительным (стафилококкам, стрептококкам, бациллам) и грамотрицательным (энтеробактериям и псевдомонадам), проявляют высокую противогрибковую активность в отношении

Candida albicans [4]. Гидрогелевые пластины предназначены для лечения свежих травматических ран, травматических дефектов мягких тканей в первую и вторую фазы раневого процесса, травматических дефектов мягких тканей с обнажением костей и сухожилий, фликтен, гранулирующих ран после аутодермопластики, донорских дефектов после взятия кожных лоскутов. Новые методики лечения травматических дефектов мягких тканей с использованием гидрогелевых форм позволяют сократить сроки лечения поверхностных дефектов мягких тканей конечностей в 3,2, а глубоких - в 1,7 раза по сравнению с контрольной группой, значительно улучшить качество жизни пациентов [5]. Комплексное лечение рожистого воспаления, включающее местное применение гидрогелевых пластин, позволило сократить средний койко-день при рожистом воспалении с 14,3 до 13,0, при этом уменьшить общую летальность с 0,76 % до 0,21 % [6].

Количественное определение мирамистина проводят титрованием 0,1 М раствором кислоты хлорной в кислоте уксусной (НД РБ 0050С-2009 «Миритин»), в 0,01 % растворе - меркуриметрическим титрованием (ФС РБ 0386-05 «Септомирин, раствор для наружного применения»). Известны способы определения количественного содержания мирамистина в лекарственных формах методами потенциометрического титрования и прямой потенциометрии с использованием трехточечного градуировочного графика [7]. При определении мирамистина в мази и суппозиториях «Пантестин», содержащих D-пантенол и мирамистин в количествах 5 % и 0,5 %, соответственно, был использован метод гетерофазного титрования [8]. Однако данные методики характеризуются высокой трудоемкостью, неспецифичностью и низкой чувствительностью.

Поэтому является актуальной задача разработки высокочувствительной, селективной методики идентификации и количественного определения мирамистина в новой лекарственной форме - гидрогелевых пластинах. Для разработки такой методики нужно оптимизировать процесс

пробоподготовки, снизить временные и трудовые затраты, что актуально при последующем использовании разработанной методики в контрольно-аналитических лабораториях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Реактивы. Для проведения анализа методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) применяли следующие реактивы: вода деионизированная, полученная с помощью системы Millipore Milli-Q (Millipore, Milford, MA, USA), метанол (Merck, кат. № 1.06018.2500), аммония дигидрофосфат (Merck, кат. № 1.01126.0502), ацетонитрил (Криохром®, РФ), аммония ацетат (Baker Analyzed HPLC® Reagent, кат. № 0390), изопропанол (Sigma-Aldrich, кат. № 31,416-1), спирт этиловый (СТБ 1334-2003).

Подготовка образцов гидрогелевых пластин. Для исследования использовали образцы лекарственного средства «Гидрогелевые пластины мирамистина 0,05 %» размером 6х9 см производства РУП «Белмедпрепараты».

При производстве гидрогелевых матриц использовали следующие компоненты: повидон (Ph. Eur.) производства AppliChem (Германия); агар (Ph. Eur.) производства Merck (Германия); полиэтиленоксид низкомолекулярный 400 (ТУ 2483-167-05757587-2000) производства ОАО «Сибур-Нефтехим» (РФ). В качестве активного антимикробного компонента была использована субстанция миритина (мирамистина) (рег. удостоверение № 582/03/09) с содержанием основного вещества - не менее 99,0 %, примесей – не более 1,0 %. Радиационную обработку гидрогелей проводили на ускорителе электронов УЭЛВ-10-10 ГНУ «ОИЭИЯИ-Сосны» НАН РБ. Параметры облучения описаны ранее [3].

В качестве образцов сравнения использовали опытные образцы гидрогелевых полимерных матриц, не содержащие мирамистин.

Приготовление стандартных растворов. Раствор рабочего стандартного образца (PCO) мирамистина готовили, растворяя 0,025 г (точная навеска) субстанции мирамистина в 20 мл воды в мерной колбе

вместимостью 25,0 мл, доводили объем водой до метки и перемешивали. Затем 5,0 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 50,0 мл и доводили объем 96 % спиртом этиловым до метки и перемешивали.

Экстракция. Для приготовления испытуемых растворов около 5,00 г измельченных гидрогелевых пластин помещали в колбу вместимостью 50,0 мл, добавляли соответствующий растворитель до 25,00 г и проводили экстракцию с использованием встряхивания на шейкере IKA® 130 basic (Германия) приготовленных проб в течение определенного промежутка времени. Полученные извлечения из матриц фильтровали через бумажный фильтр «синяя лента», а затем через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм (Millipore, Bedford, MA, USA).

Спектрофотометрический анализ. Спектральные свойства раствора мирамистина-пропилдиметилбензиламмония хлорида (0,5 мг/мл в 96 % спирте этиловом) были изучены с использованием спектрофотометра Lambda 25 UV/VIS Spectrometer (Perkin Elmer, Германия) в диапазоне длин волн от 220 до 300 нм.

Хроматографический анализ. Разработка методики анализа гидрогелевых пластин мирамистина проводилась с использованием жидкостного хроматографа «Agilent 1200 Series» со спектрофотометрическим детектором модели Agilent G1314B. Диапазон длин волн - от 190 до 700 нм. Диапазон шкалы детектора - от 0,0001 до 2,0 о.ед. Цена деления – 0,0001 о.ед. В системе используется четырехканальный насос модели Agilent G1311A. Скорость подвижной фазы устанавливается от 0,001 до 10 мл/мин при давлении 0-410 атмосфер. Точность установки потока - $\pm 0,5$ % при 1 мл/мин (изопропиловый спирт). Воспроизводимость установки потока (RSD) - $\pm 0,3$ % при 1 мл/мин (смесь вода/метанол). Система оснащена автосамплером модели Agilent G1367B. Диапазон объема ввода образца - от 0,1 до 100 мкл с погрешностью 0,2 %.

Расчет количественного содержания мирамистина в гидрогелевых пластинах проводили по формуле:

$$X_1 = \frac{S_1 \times m_0 \times 5 \times m_2 \times (100 - W_0)}{S_0 \times m_1 \times 25 \times 50 \times p \times 100} \cdot A_0$$

где S_1 – среднее значение площади пика мирамистина, вычисленное из хроматограмм испытуемого раствора;

S_0 – среднее значение площади пика мирамистина, вычисленное из хроматограмм раствора РСО мирамистина;

m_0 – масса навески РСО мирамистина, в граммах;

m_1 – масса навески гидрогелевой пластины, в граммах;

m_2 – масса навески гидрогелевой пластины со спиртом этиловым, в граммах;

p – плотность спирта этилового.

Полученные данные обрабатывались с помощью программы Chem Station Agilent для хроматографии.

Валидация. Валидация разработанной методики количественного определения мирамистина в гидрогелевых полимерных матрицах проведена по следующим аналитическим характеристикам: избирательность, линейность, повторяемость, внутрилабораторная воспроизводимость и правильность [9,10]. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы Microsoft Excel.

Избирательность. Для доказательства избирательности методики проводили сравнительный анализ извлечений из гидрогелевых пластин, не содержащих действующего вещества (раствор «плацебо»), из гидрогелевых пластин с мирамистином и раствора РСО мирамистина. Экстракцию компонентов «плацебо» и мирамистина из гидрогелевых матриц проводили 96 % спиртом этиловым в течение 3-х часов, как описано в разделе «Экстракция». Критерием приемлемости служило отсутствие на хроматограммах раствора «плацебо» пиков со временем удерживания, совпадающим со временем удерживания пика мирамистина на хроматограммах раствора РСО.

Линейность. Определение линейности разработанной методики проводилось на 5 уровнях концентрации: 70 %, 90 %, 100 %, 110 % и 130 % от количества мира-

мистина, принятого за 100 % (0,1 мг/мл в пробе). Готовили исходный раствор субстанции мирамистина с концентрацией 1 мг/мл в 96 % спирте этиловом и выполняли соответствующие разведения.

Для оценки линейности методики была представлена графически зависимость площади пика мирамистина как функции содержания анализируемого вещества. Выполнена статистическая обработка результатов анализа и вычислена регрессивная линия методом наименьших квадратов. Критерием приемлемости линейности является коэффициент корреляции, величина которого должна быть не ниже 0,99, и пересечение с осью Y – не более 2,0 % отклика номинальной концентрации.

Повторяемость. Повторяемость оценивалась по результатам 6 параллельных анализов одной серии лекарственного средства «Гидрогелевые пластины мирамистина 0,05 %», проведенных исследователем в один день. Критерий приемлемости выражается величиной относительного стандартного отклонения, которая не должна превышать 5 %.

Внутрилабораторная воспроизводимость. Внутрилабораторная воспроизводимость оценивалась по результатам 6 параллельных анализов одной серии лекарственного средства, выполненных двумя исследователями в разные дни, при использовании различных хроматографических колонок и химической посуды. Величина относительного стандартного отклонения не должна превышать 5 %.

Правильность. Выполнен анализ модельных смесей на трех уровнях концентраций, эквивалентных 70 %, 100 % и 130 % от номинального содержания мирамистина (0,1 мг/мл в пробе). Модельные растворы готовили, добавляя к раствору «плацебо» определенное количество рабочего стандартного образца мирамистина и проводили дальнейшую пробоподготовку и анализ согласно методике. Рассчитывали величину процента восстановления как отношение полученного при анализе количества к известному добавленному количеству мирамистина. Критерием приемлемости является процент восстановления, при ис-

пользовании растворов заданных концентраций, скорректированный на 100 %, который должен составлять 95 – 105 %.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Спектрофотометрическое определение мирамистина. Мирамистин представляет собой соль четвертичного аммониевого соединения – миристамидопропилдиметилбензиламмония хлорид моногидрат. Как видно из химической структу-

ры (рисунок 1), мирамистин является полярным соединением.

Благодаря наличию бензольного кольца миристамидопропилдиметилбензиламмония хлорид поглощает в ультрафиолетовой области спектра. УФ-спектр раствора мирамистина (0,5 мг/мл) в 96 % спирте этиловом (рисунок 2) имеет максимумы при длинах волн (257 ± 2) нм, (262 ± 2) нм и (270 ± 2) нм.

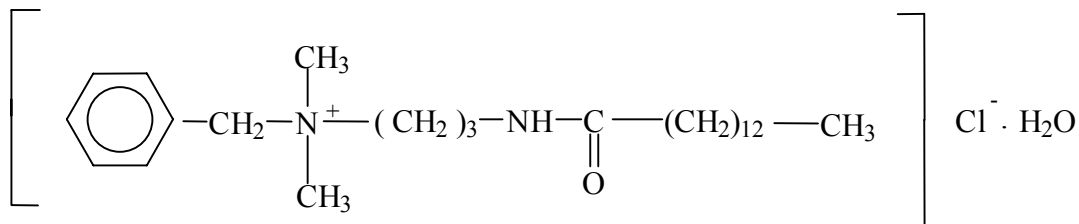


Рисунок 1 – Структурная формула миристамидопропилдиметилбензиламмония хлорида моногидрата (мирамистина)

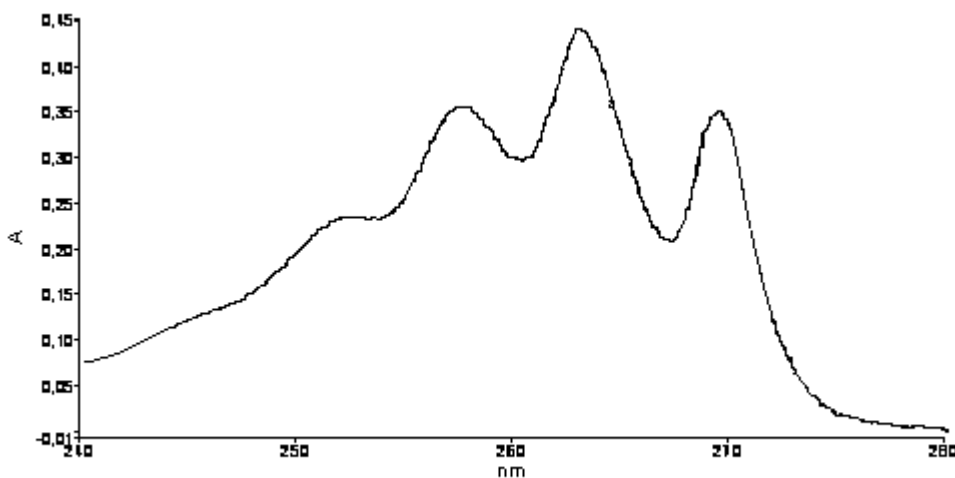


Рисунок 2 – УФ-спектр мирамистина (0,5 мг/мл в 96 % спирте этиловом)

С учетом определения максимумов поглощения мирамистина в качестве аналитической длины волны для детектирования при проведении анализа методом жидкостной хроматографии выбрали 261 нм.

Методика определения мирамистина с применением ВЭЖХ. При разработке методики проводился выбор оптимальных условий хроматографирования: тип и геометрия используемого сорбента, природа и соотношение растворителей в подвижной фазе.

При выборе хроматографических систем использовали колонки с различными сорбентами с размером частиц 5 мкм (Discovery® Amide C16 размером 250x4,6 мм, заполненная пальмитамидопропилсилильным силикагелем; катионообменная BioBasic SCX размером 250x4,6 мм, заполненная силикагелем с привитыми группами бензил-3-сульфоновой кислоты, Hyper-sil Gold CN размером 250x4,6 мм, заполненная силикагелем нитрильным, обращено-фазовые колонки C₁₈).

Оптимальные условия разделения пиков вспомогательных компонентов гидрогелевых матриц и мирамистина были получены при использовании колонки, заполненной октисилилильным силикагелем с размером частиц 5 мкм (Lichrospher 100 RP-8 размером 250x4,6 мм).

При разработке методики идентификации и количественного определения мирамистина для приготовления подвижной фазы применялись различные системы растворителей. При использовании в качестве подвижной фазы смесей: метанол - 0,15 М аммония дигидрофосфат (30:70), ацетонитрил - 0,15 М аммония дигидрофосфат (20:80 и 30:70) пик мирамистина был асимметричным и размытым.

Приемлемые результаты были получены при использовании в качестве подвижной фазы 0,5 М раствора аммония ацетата в смеси метанол – вода в различных соотношениях (80:20; 85:15; 90:10; 93:7; 95:5). При дальнейшей оптимизации условий элюирования установлено соотношение компонентов подвижной фазы (0,5 М раствор аммония ацетата: смесь метанол – вода в соотношении 93:7; pH=6,7), при котором форма пика мирамистина соответствует критериям пригодности хроматографической системы (коэффициент асимметрии пика (Т) – не более 2, количество теоретических тарелок (N) – не менее 2000). Изменение значения pH подвижной фазы ($\pm 0,5$) не оказывало существенного влияния на время удерживания мирамистина.

Извлечение мирамистина из гидрогелевых матриц проводили, используя в качестве экстрагентов: подвижную фазу, воду для инъекций, метанол, изопропанол и спирт этиловый различной концентрации. Максимальное извлечение мирамистина (100 %) из матриц наблюдалось при использовании 96 % спирта этилового (табл. 1).

Кроме того, одним из важных факторов для обеспечения наиболее полного экстрагирования действующих веществ является соотношение количества образца и экстрагента, а также степень измельчения образца. Благодаря наличию в трехмерной полимерной структуре пор гидрогелевые пластины способны впитывать большое количество растворителя. Экспериментально были подобраны соотношения навески гидрогеля и количества экстрагента. В результате проведенных исследований с учетом степени набухания гидрогелевых матриц установлено оптимальное соотношение навески гидрогелевых пластин и экстрагента - 1:4, при котором концентрация мирамистина в экстракте соответствует диапазону применения методики. При соотношении 1:1 гидрогелевые пластины полностью впитывают экстрагент, т.к. их максимальная степень набухания составляет около 3,0; при использовании большего количества растворителя (например, при соотношении 1:5; 1:6 и т.д.) концентрация мирамистина в испытуемом растворе находится ниже диапазона применения методики.

Таблица 1 – Влияние экстрагента и степени измельчения гидрогелевых матриц на степень извлечения мирамистина

Экстрагент	Размер фрагментов гидрогелевых матриц при измельчении, мм	Степень извлечения мирамистина из гидрогелевой матрицы, %
0,5 М раствор аммония ацетата в смеси метанол - вода (93:7)	5x5	Не детектируется
Вода	5x5	Не детектируется
Метанол	5x5	Не детектируется
Изопропанол	5x5	Не детектируется
70 % спирт этиловый	5x5	60 %
96 % спирт этиловый	5x5	95 %
	2x2	100 %
	10x10	70 %

Полное извлечение мирамистина 96 % спиртом этиловым происходит при измельчении гидрогелевых пластин до фрагментов размером около 2х2 мм (таблица 1). С уменьшением размеров фрагментов при измельчении увеличивается набухаемость гидрогелевых пластин, что усложняет процесс дальнейшей пробоподготовки (необходимо применение центрифугирования, дополнительной фильтрации, большие потери экстракта).

Была изучена зависимость количества извлеченного действующего вещества из полимерных матриц от времени экстракции. Процесс экстракции мирамистина из гидрогелевых матриц проводили при соотношении навески гидрогелевой пла-

стины и 96 % спирта этилового - 1:4. Концентрация антисептика в пробе составляла 0,1 мг/мл. Для определения оптимального времени экстракции мирамистина из гидрогелевых пластин проводили анализ в течение 5 часов через равные промежутки времени: 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0; 4,5 и 5,0 часов.

Результаты исследования зависимости степени извлечения действующего вещества от времени экстракции представлены на рисунке 3. Максимальный выход мирамистина из матрицы и установление концентрационного равновесия наблюдается при экстракции в течение 3 часов.

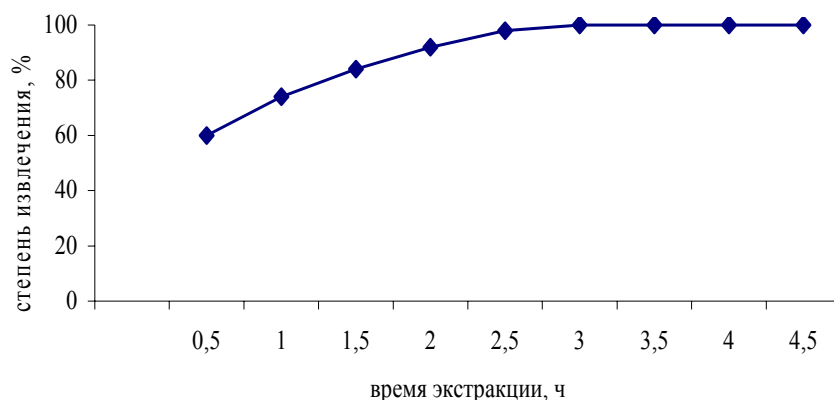


Рисунок 3 – Зависимость степени извлечения мирамистина из гидрогелевых матриц от времени экстракции

Установлено, что при использовании в качестве экстрагента 96 % спирта этилового в соотношении к навеске измельченной (размеры около 2х2 мм) гидрогелевой пластины 4:1 при экстракции в течение 3 часов степень извлечения мирамистина достигает 100 %.

В результате проведенных исследований разработана методика идентификации и количественного определения мирамистина в гидрогелевых полимерных матрицах с применением ВЭЖХ:

- колонка Lichrospher 100 RP-8 размером 250х4,6 мм, заполненная октилсилильным силикагелем с размером частиц 5 мкм;
- подвижная фаза: 0,5 М раствор аммония ацетата в смеси метанол - вода (93:7);
- скорость подвижной фазы – 1,0 мл/мин;
- детектирование при длине волны - 261 нм;

- температура колонки – 20 °С;
- объем вводимой пробы – 100 мкл;
- количество повторных инъекций – 3.

Доказана пригодность хроматографической системы: коэффициент асимметрии пика составил 1,6; эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику мирамистина на хроматограммах раствора РСО мирамистина – 3500 теоретических тарелок; относительное стандартное отклонение, рассчитанное для площадей пиков мирамистина на хроматограммах раствора РСО мирамистина - не более 2,0 %. На рис. 6 представлена типичная хроматограмма экстракта из гидрогелевых пластин с мирамистином, полученная с использованием разработанной методики. Время удерживания пика мирамистина совпадает со временем удержива-

ния на хроматограмме раствора РСО (рисунк 4).

Разработанная методика ВЭЖХ также рекомендована для определения подлинности мирамистина в гидрогелевых пластинах. Идентификацию действующего вещества проводят по определению време-

ни удерживания основного пика на хроматограмме мирамистина, экстрагированного из матрицы, которое должно соответствовать времени удерживания мирамистина при хроматографировании раствора РСО (рисунки 4, 6).

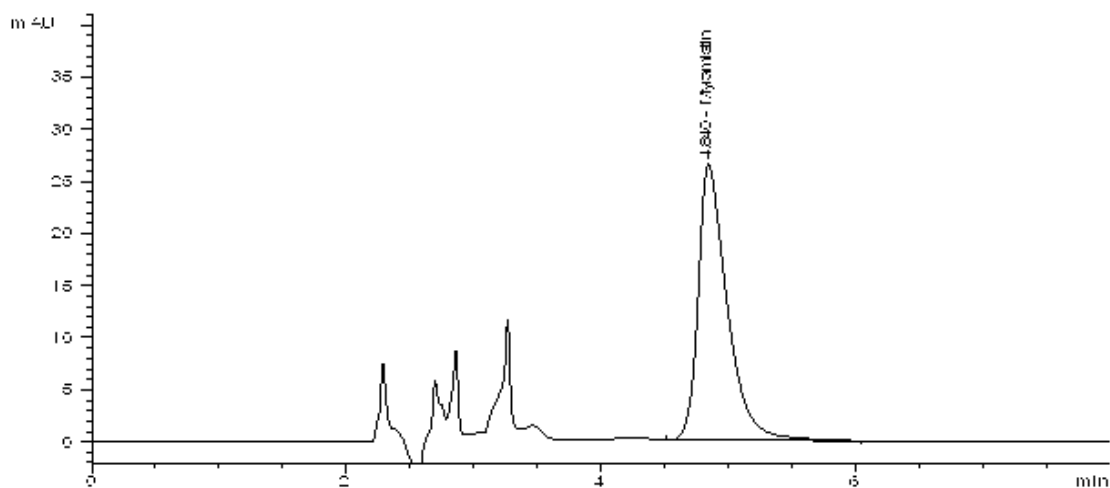


Рисунок 4 – Типичная хроматограмма раствора РСО мирамистина (время удерживания мирамистина – 4,84 мин)

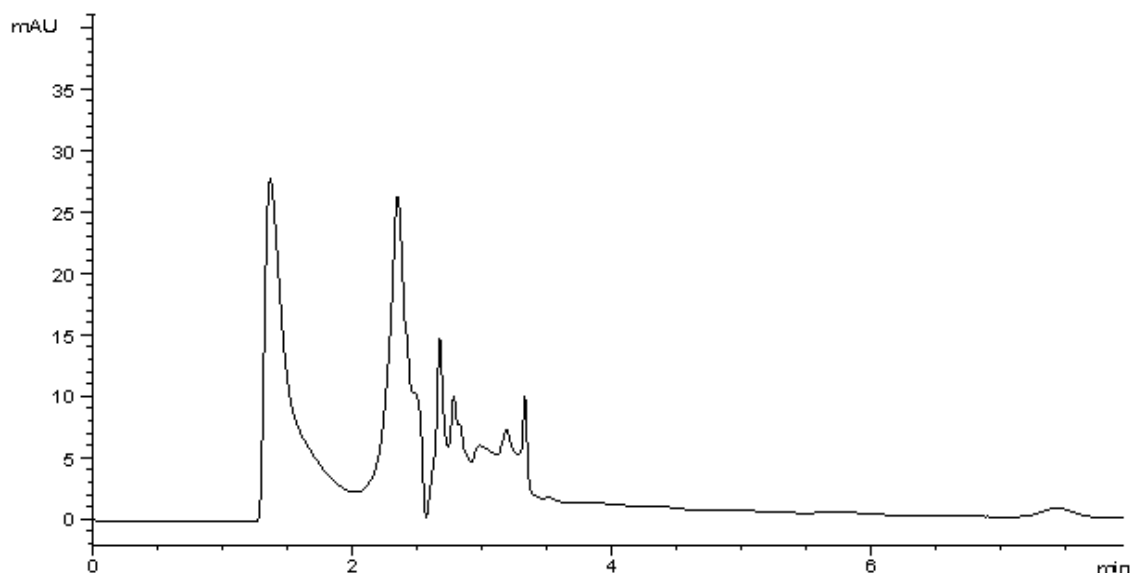


Рисунок 5 – Типичная хроматограмма экстракта из гидрогелевых пластинок, не содержащих действующих веществ (раствор «плацебо»)

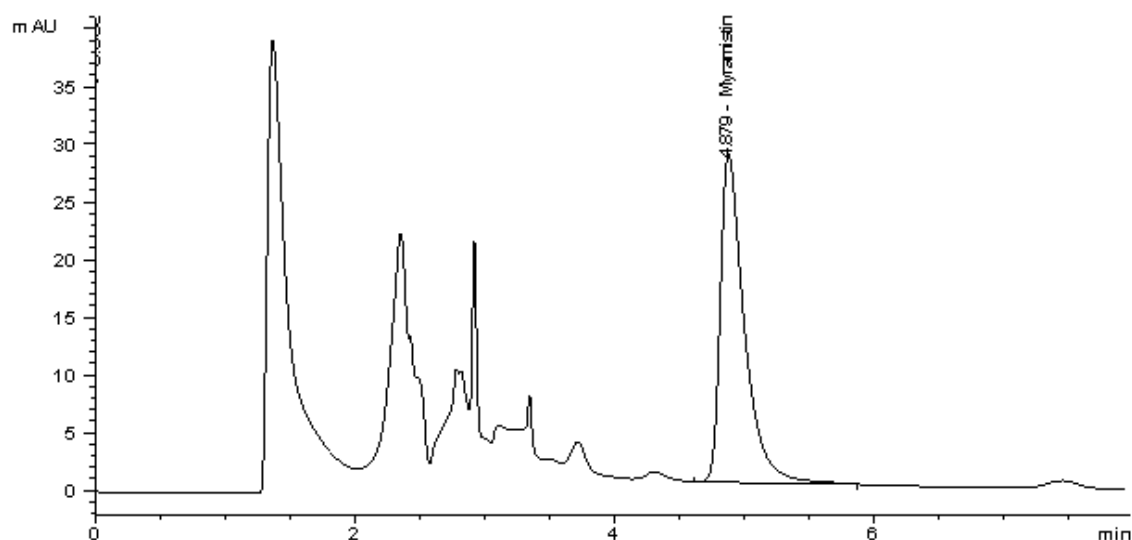


Рисунок 6 – Типичная хроматограмма экстракта из лекарственного средства «Гидрогелевые пластины мирамистина 0,05 %» (время удерживания мирамистина - 4,88 мин)

Таблица 2 – Определение линейности разработанной методики

Концентрация мирамистина в растворе, % от нормируемого значения	Концентрация мирамистина в растворе, мг/мл	Площадь пика мирамистина в испытуемом растворе, S_i			
		S_1	S_2	S_3	$S_{\text{средн.}}$
70	0,06775	295,1	294,1	295,7	295,0
90	0,08710	383,3	371,5	384,3	379,7
100	0,09678	426,7	427,2	425,1	426,3
110	0,10646	468,3	471,3	470,6	470,1
130	0,12581	543,9	551,3	543,9	546,4
Коэффициент аппроксимации (не менее 0,99)				0,9987	
Пересечение с осью Y (не более 2,0 % отклика номинальной концентрации)				0,3	

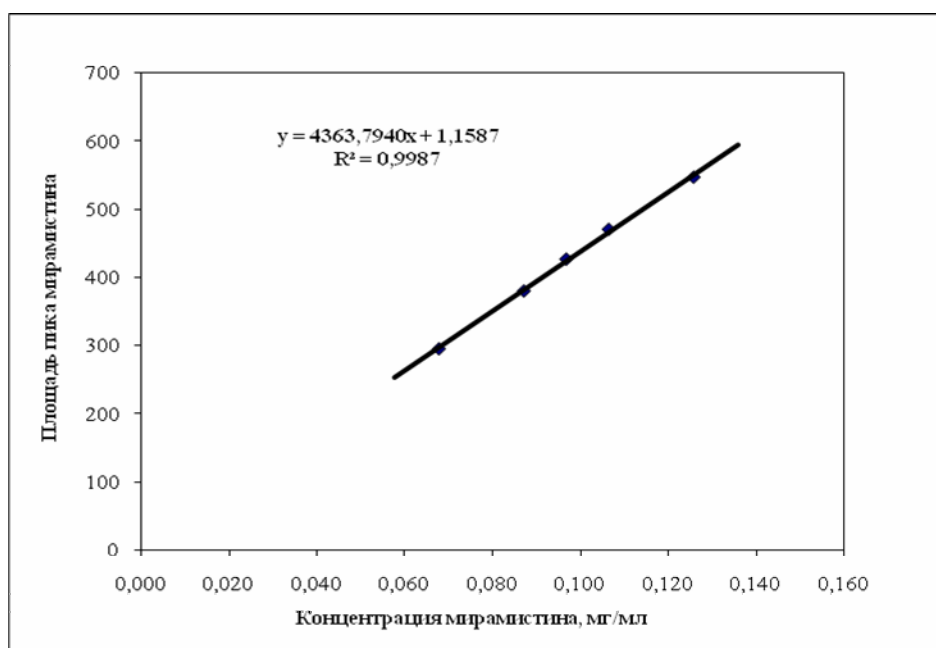


Рисунок 7 – Зависимость площадей хроматографических пиков от концентрации мирамистина в анализируемых растворах

Методика исследована в условиях повторяемости и внутрिलाбораторной воспроизводимости. Величина относительно стандартного отклонения при оценке повторяемости составила 3,55, при оценке

внутрिलाбораторной воспроизводимости – 3,58, что свидетельствует о прецизионности методики. Статистическая обработка полученных результатов анализа представлена в таблице 3.

Таблица 3 – Статистическая обработка результатов анализа ($p=0,95$; $n=12$)

X_i	X_{cp}	S^2	S	RSD, %
0,52; 0,52; 0,53 0,52; 0,49; 0,49 0,52; 0,52; 0,54 0,53; 0,49; 0,50	0,51	0,000299	0,01730	3,47

Правильность разработанной методики подтверждена соответствующими испытаниями. Было выполнено 3 определения для 3-х различных концентраций мирамистина (70 %, 100 % и 130 %). Сред-

ний процент восстановления находился в пределах от 102,5 до 104,5 % (таблица 4), что соответствует критерию приемлемости.

Таблица 4 – Определение правильности методики

	70 %	100 %	130 %	Раствор PCO
Масса навески PCO мирамистина m (m), мг	7,32	10,18	13,33	24,77
Средняя площадь пика мирамистина на хроматограммах испытуемого раствора (раствора PCO) $S_i(S_0)$	260,8	359,0	466,0	419,9
Процент восстановления (95,0 – 105,0)	104,5	103,4	102,5	

В результате проведенных исследований разработана методика идентификации и количественного определения мирамистина в гидрогелевых полимерных матрицах, которая включена в фармакопейную статью «Гидрогелевые пластины мирамистина 0,05 %» и используется для контроля качества лекарственного средства. Разработанная методика позволяет определять мирамистин в низких концентрациях по биологически активной части молекулы в присутствии остаточных количеств вспомогательных компонентов гидрогелей.

В отличие от обычно применяемых для количественного определения солей четвертичных аммониевых оснований методов ацидиметрии, аргентометрии или меркуриметрии методика ВЭЖХ исключает использование дорогостоящих и токсичных реагентов, требующих последующего сбора и утилизации остатков титранта.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Разработана методика количественного определения мирамистина в гидрогелевых полимерных матрицах с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии.

2. Экспериментально подобраны условия пробоподготовки для определения мирамистина в гидрогелевых пластинах: определен экстрагент (96 % спирт этиловый), соотношение навеска гидрогелевой пластины:экстрагент (1:4), время экстракции (3 часа).

3. Проведена валидация разработанной методики. В результате валидации показана пригодность хроматографической системы, установлены избирательность, линейность, повторяемость, воспроизводимость и правильность методики.

4. Разработанная методика определения мирамистина включена в фармакопейную статью на лекарственное средство «Гидро-

гелевые пластины мирамистина 0,05 %» (разделы «Подлинность» и «Количественное определение» ВФС РБ 1028-06).

SUMMARY

Y.G. Charnetskaya, Y.G. Belkovskaya,
T.V. Trukhachova, A.I. Zhebentyaev,
P.T. Petrov

HPLC METHOD DEVELOPMENT AND VALIDATION FOR MYRAMISTIN DE- TERMINATION IN HYDROGEL POLYMER MATRIXES

A method for identification and quantification of myramistin (myristamidopropyltrimethylammonium chloride) in novel dosage forms based on hydrogel polymer matrixes by high-performance liquid chromatographic assay with UV-detection was developed.

The most suitable chromatographic conditions have been found. These conditions comprised the use of a 0,25 mm long and 4,6 mm id chromatographic column packed with octylsilyl silicagel for chromatography with particle diameter of 5 μ m (LiChrospher 100 RP-8), 0,5 M ammonia acetate dissolved in a mixture methanol: water (93 : 7) as a mobile phase with a flow rate of 1,0 ml/min, a 100 μ l loop injector and a spectrophotometer detector set at 261 nm. The procedure for sample preparation was developed and optimized.

Results of validation of the above-mentioned method were in compliance with acceptance criteria for specificity (placebo effect), linearity, repeatability, intermediate precision and accuracy.

Key words: high-performance liquid chromatographic, hydrogel polymer matrixes, myramistin.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мирамистин: сб. материалов под ред. Ю.С. Кривошеина. - М.: Инфамед, 2001. - 87 с.
2. Противомикробное и ранозаживляющее средство на основе гидрогелевой полимерной матрицы: пат. 11060 Республика Беларусь: МПК (2006) А 61L 15/16/ Петров П.Т. [и др.]; заявитель и патентообладатель РУП «Белмедпрепараты» (BY); заявл. 21.10.2005; опубл. 30.06.2007 // Афіцыйны

бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. - 2008. - № 4 (63). - С. 62.

3. Государственная фармакопея Республики Беларусь: офиц. изд-ние / РУП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; ред. Г.В. Годовальников. - Минск: МПТК полиграфии, 2006. - Т. 1. - 656 с.
4. Противомикробная активность новых лекарственных средств на основе гидрогелевых полимерных матриц / Ю.Г. Чернецкая [и др.] // Вестник фармации - 2009. - № 3. - С. 63 - 75.
5. Бенько, А.Н. Новые технологии лечения травматических дефектов мягких тканей конечностей с использованием лекарственных форм на основе гидрогеля: автореф. дис. ...канд. мед. наук:14.00.22/ А.Н. Бенько; ГУ «Республиканский научно-практический центр травматологии и ортопедии». - Минск, 2008. - 27 с.
6. Карман, А.Д. Обоснование комплексного метода лечения рожистого воспаления: автореф. дис. ...канд. мед. наук:14.00.27/ А.Д. Карман; УО «Белорусский государственный медицинский университет». - Минск, 2008. - 20 с.
7. Кобзарь, Г.Л. Применение ионометрии для анализа декаметоксина, мирамистина, этония и их лекарственных форм: автореф. дис. ...канд. мед. наук:15.00.02/ Г.Л. Кобзарь; Национальный фармацевтический университет. - Харьков, 2005. - 20 с.
8. Георгиевский В.П. Технология и стандартизация лекарств. Т.2 [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <http://www.himi.orglib.ru/bgl/8268.html>. - Дата доступа: 14.05.2010.
9. СТБ 1436-2004 Производство лекарственных средств. Валидация методик испытаний. - Мн.: Госстандарт.
10. СТБ ИСО 5725-(1-6)-2002. Часть 1-6 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений».

Адрес для корреспонденции:

РУП «Белмедпрепараты»,
Республика Беларусь,
220007, г. Минск, ул. Фабрициуса, 30,
тел./факс 8(017)220 31 42
e-mail: nfc@belmedpreparaty.com
Чернецкая Ю.Г.

Поступила 02.08.2010 г.
